

## 環境 DNA 分析による瀬淵スケールを対象としたアユの生息場評価に関する基礎研究

熊本大学 学生会員 ○薬師寺弘幸, 正会員 皆川朋子

## 1. はじめに

日本におけるアユの漁獲量は農林水産省の報告<sup>1)</sup>によると、1991年(約18000t)にピークを迎え、その後減少傾向にあり、2015年(約2400t)には約86%減少した<sup>1)</sup>。その要因として、河床低下や二極化による生息場・産卵場の減少や堰やダムによる河川の分断化等が指摘され、各地で保全・再生にむけた取り組みが実施されている。これまでアユの生息場や産卵場に関しては、比較的多くの研究が行われ、アユの行動特性や流速、河床材料の粒径、河床軟度などの生息・産卵要因について報告されている。しかし、主な調査手法である投網や潜水調査は投量や多大な労力を要し、急流河川や大河川においてはそれらを用いた定量調査は難しいことから、十分な生息量評価やモニタリング等が行えない場合も少なくないと考えられる。そこで近年注目されているのが、環境DNA分析を活用した調査手法であり、急流河川や大河川を対象とした調査や、広域的な生物分布、生物量、貴重種調査への適用が期待されている。これまでに、アユを対象とした環境DNA分析に関しては、生物量と環境DNA濃度の間に高い正の相関関係があること<sup>2)</sup>、河川の縦断的な生物分布を定量的に評価することが可能であること等が示されている。しかし、アユを含む魚類の生息場評価を行う上で重要となる瀬淵を対象とした定量評価への適用や局所的な産卵場評価への適用に関する知見は限られている。環境DNA分析を用いることで、瀬淵スケールでの生息量の把握や水理諸量との関係に関する多くの定量的データを取得することができれば、既存の生息モデルの精度の向上や河川の構造と生息場との関係解明に寄与する新たな知見が得られる可能性も期待できる。

以上を踏まえ本研究では、それらの可能性を評価するため、環境DNA分析を用いて瀬淵スケールを対象としたアユの生息場評価を試み、その適用性に関する知見を得ることを目的に調査を行った。

## 2. 方法

瀬淵スケールを対象に環境DNA濃度を測定し、その濃度

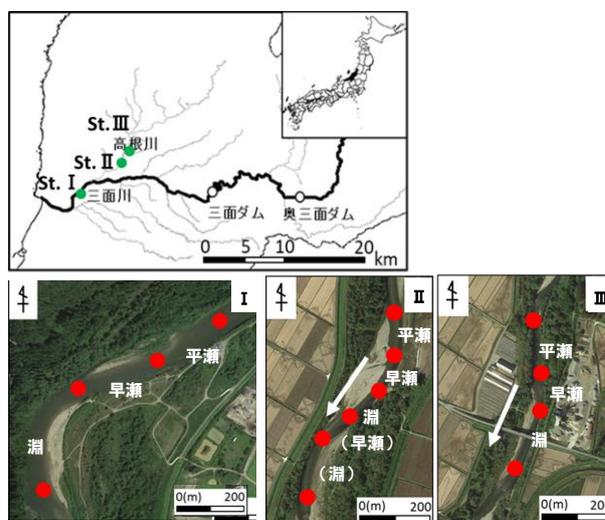


図-1 調査区 I～IIIにおける瀬淵ハビタットと採水地点

が生息密度の違いを反映した値として妥当であるか、既往研究における各ハビタットのアユの生息密度と比較し評価した。また、環境DNA濃度と水理量との関係について考察した。

新潟県村上市を流れる三面川及びその支流の高根川を対象とした。調査対象区は、平瀬、早瀬、淵が分布する区間として、河口から4.6~5.6km(区間I:三面川)、河口から11.4~11.9km(区間II:支川高根川)、12.8~13.2km(区間III:支川高根川)の3区間を選定した(図-1)。なお、区間IIに関しては、平瀬、早瀬、淵に加え、その下流の早瀬、淵も調査対象とした。各ハビタット区間長は約50m~200m程度であった。

調査区間最上流端及び各ハビタットの下流端の流心部付近において採水ボトルを3回共洗いした後、500ml採水した。採水した試料はDNAの分解を阻害するため塩化ベンザルコニウム溶液を1Lあたり1mLを添加し冷暗状態で実験室に運搬した。なお、調査時の試料の運搬中に汚染が生じていないことを確認するため、クーラーボックス内にクーラーブランクとして脱イオン水を入れたボトルを用意し、採水ボトルと同じように扱った。また、各ハビタットに3本の測線を設け、流心部の水深、6割水深の流速(プロペラ式流速計VR-301, KENEK Co., Tokyo, Japan)を測定した。

現地で採水試料は、冷暗状態で実験室に運搬し、GF/Fガラスフィルターでろ過し、アルミホイルに包んで冷凍保存した。後日、フィルターからDNAを抽出し、リアルタイムPCRを用いて定量PCRを行い、平瀬、早瀬、淵のアユの環境DNA濃度と既往研究における各ハビタットのアユの生息密度の比較、物理量との関連性について検討し、瀬淵スケールにおけるアユの生息量評価の可能性を考察した。

### 3. 結果及び考察

環境DNA濃度は縦断的に平瀬から早瀬にかけて増加し、淵で低下する傾向がみられた。図-2に各ハビタットの環境DNA濃度相対値の平均値と標準偏差、及びFriedman testの結果を示す。早瀬の環境DNA濃度相対値は $1.38 \pm 0.07$ であり最も大きく、次いで平瀬 $0.99 \pm 0.25$ 、淵 $0.63 \pm 0.19$ の順であった。Friedman testの結果、早瀬の環境DNA濃度相対値は淵より有意差に大きかった ( $P < 0.01$ )。平瀬と淵の間には有意差は検出されなかったものの、平瀬の環境DNA濃度相対値は淵より大きい傾向がみられた。

次に、測定された各ハビタットの環境DNA濃度が、アユの生息密度を反映した値として妥当な範囲にあるか評価するため、川那部が1955～1969年に宇川を対象に行ったアユの生息密度に関する調査結果と比較した。調査河川は本調査で対象とした河川と同規模の河川であること、15年間のデータの蓄積があることから、比較対象として適切であると判断し用いた。比較に際しては、各調査年における早瀬、平瀬、淵のアユの生息密度の平均値を1として、早瀬、平瀬、淵の生息密度の相対値を算出した。各ハビタットの生息密度相対値の平均値及び標準偏差 ( $n = 15$ ) は、早瀬で $1.54 \pm 0.13$ 、平瀬で $0.94 \pm 0.18$ 、淵で $0.52 \pm 0.15$ であり、本研究で得られた各ハビタットの濃度とほぼ合致したものであった。このことから、本研究で対象とした瀬淵スケール (約50～200m) においては、各ハビタットの下流端の環境DNA濃度によって、各ハビタットにおけるアユの生息量を相対的に評価することが可能であることを示唆するものと考えられた。しかし、河川におけるある地点の環境DNA濃度は、上流からの流入と流下に伴う減耗の影響を受けるが、ここではこれを考慮できていない。Doi et al.<sup>2)</sup>の研究では、アユの現存量と環境DNA濃度の対応は採水点直上約60mの範囲であることが示されており、本研究で対象とした河川は、Doi et al.が対象とした河川と同程度のスケールであり、各ハビタット区間

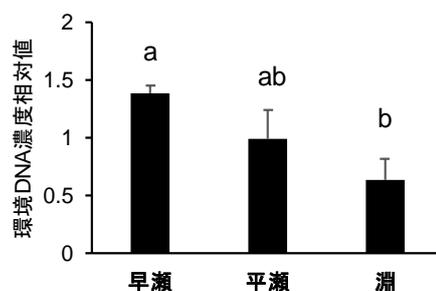


図-2 各ハビタットの環境DNA濃度相対値

注) 異なる英小文字間には Friedman test において  $p < 0.05$  で有意差が検出されていることを示す。

長は約50～200mで、60mを超えるが、この規模の河川、ハビタットスケールにおいては、それらを考慮すること

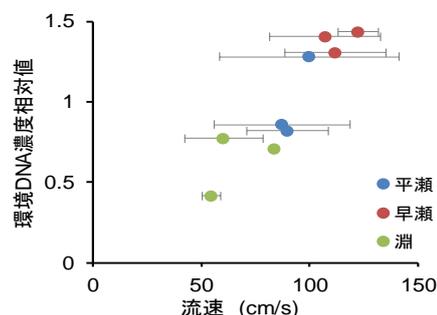


図-3 環境DNA濃度相対値と流速の関係  
流速は3測線における測定値の平均値±標準偏差を示す。ただし、1地点のみ1測線計測。

なく、平瀬、早瀬、淵におけるアユの生物量の相対的な評価が可能である可能性がある。

次に、環境DNA濃度と水理量との関係について、水理量との関係を検討した。採水地点に最も近い地点の流速と環境DNA濃度相対値の間には有意な関係式は得られなかったが、各ハビタットの3測線で取得した流速の平均値と環境DNA濃度相対値の間には有意な決定係数をもつ関係式が得られた (図-3,  $y = 0.015x - 0.336$ ,  $P < 0.001$ )。これはアユの流速に対する選好性と合致した結果であり、前述したハビタット下流端の環境DNA濃度はそのハビタットの生物量の把握に用いることが可能であることを支持するものと評価される。また、DNA濃度と流速との高い関係性が示され、このことは、環境DNA分析を活用し定量された生物量と水理諸量との関係を用いることで、より精度が高い生物の生息場モデルの構築が可能になることを示すものと考えられた。

#### 引用文献

- 1) 内水面漁業生産統計,  
[http://www.maff.go.jp/j/tokei/sokuhou/gyogyou\\_seisan\\_15/](http://www.maff.go.jp/j/tokei/sokuhou/gyogyou_seisan_15/)
- 2) Doi et al : Environmental DNA analysis for estimating the abundance and biomass for stream fish, Freshwater Biology, Volume 62, Issue 1, pp.30-39, 2017.